بهینه‌سازی تولید رنگدانه نارنجی توسط قارچ *موناسکوس پورپورئوس* از ضایعات خرما به روش سطح پاسخ

فاطمه بخشی[1]، مهشید جهادی[2*]

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان) دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان، ایران.

۲. گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان) دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان، ایران.

***نویسنده مسئول:** *m.jahadi@khusif.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۹/۰۸

چکیده

رنگدانه تولید شده توسط قارچ *موناسکوس* به دلیل توانایی بالای تولید رنگدانه‌های متفاوت از نظر رنگ و ثبات شیمیایی از توجه ویژه‌ای برخوردار است. در این تحقیق تولید رنگدانه نارنجی توسط *موناسکوس پورپورئوس* PTCC 5303 در شرایط تخمیر در حالت غوطه‌وری با استفاده از خرمای ضایعاتی انجام پذیرفت. عوامل موثر غلظت قند خرما (۶۰-۲۰ گرم بر لیتر)، نمک (۱۲-۶ درصد) و pH (۹-۶) محیط کشت به منظور بهینه‌سازی تولید رنگدانه نارنجی با استفاده از روش سطح پاسخ طرح مرکب مرکزی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت قند خرما ۲۰ گرم بر لیتر، نمک ۶ درصد و pH برابر ۹ بهترین شرایط برای تولید رنگدانه نارنجی (۶/۷ واحد جذب نوری) می‌باشد. در بهینه شرایط تولید، بیشترین بازده تولید رنگدانه نارنجی، راندمان تولید بیومس، راندمان تبدیل سوبسترا و راندمان تخمیر به ترتیب (OD) ۰/۰۵± ۶/۲۴ ،(g/l) ۷/۲ ، ۸۲٪ و (g/l.day) ۵/۳۶ می باشد. با توجه به نتایج محیط کشت خرما می‌تواند به عنوان منبع کربن در تولید رنگدانه نارنجی توسط قارچ *موناسکوس پورپورئوس* مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: خرما، رنگدانه نارنجی، روش سطح پاسخ، طرح مرکب مرکزی، *موناسکوس پورپورئوس*.

مقدمه

امروزه به دلیل نگرانی‌های مصرف‌کنندگان در مورد ترکیبات شیمیایی، تمایل روزافرونی به استفاده از مواد غذایی طبیعی در صنایع غذایی وجود دارد. از آنجا که رنگ‌های شیمیایی اثرات نامطلوبی بر سلامتی دارند، متخصصین مواد غذائی مانند گذشته‌های دور به دنبال استفاده مجدد و علمی‌تر از رنگ‌های طبیعی هستند. در مقایسه با رنگ‌های استخراج شده از گیاهان و حیوانات، میکروارگانیسم‌ها منبع جذاب‌تری هستند زیرا صرفه نظر از ایمن بودن، آنها محدودیت فصلی ندارند و می‌توانند رنگ را در مقادیر زیاد تولید کنند. همچنین شرایط و استفاده از این رنگ‌ها مطلوب‌تر است (Chen & Johns, 1993;Silveira et al., 2013). در این میان رنگ‌های با منشاء قارچی کاربردهای وسیع و بسیار مهمی در سلامتی، تغذیه و اقتصاد جامعه انسانی داشته است. بیش از هزار رنگ متنوع در قارچ‌ها موجود می‌باشد که در موجودات دیگر یافت نمی‌شوند و یا به میزان بسیار ناچیز وجود دارند که از جمله می‌توان به رنگ‌های اختصاصی تولید شده توسط بعضی از سویه‌های قارچ *موناسکوس* اشاره کرد. رنگ‌های تولید شده توسط این قارچ از۲۸۰۰ سال پیش در کشورهای جنوب شرقی آسیا و به‌خصوص در چین به دلیل خواص خوراکی، داروئی، بهداشتی و آرایشی مورد استفاده قرار می‌گیرد. (Dominguez-Espinosa and Webb, 2003). اگرچه رنگدانه‌های موناسکوس اغلب با استفاده از تخمیر حالت جامد تولید می‌شوند، اما تخمیر غوطه‌وری جایگزین مناسبی است که تولید بسیاری از متابولیت‌های ثانویه را به همراه دارد. در تخمیر غوطه‌وری کنترل فرایند آسان‌تر است که زمان و هزینه تخمیر را

Archive of SID
www.SID.ir

کاهش می‌دهد. اخیرا تولید این رنگدانه با استفاده از ضایعات کشاورزی مانند برنج، جو، نشاسته، پوست سیب‌زمینی، پوست موز، هویج و پودر ذرت مورد توجه بسیاری قرار گرفته است (Feng et al., 2012)، زیرا استفاده از ضایعات باعث کاهش هزینه تولید شده و از طرفی هزینه تیمار ضایعات را کاهش می‌دهد و آنها را به فراورده‌های با ارزش افزوده تبدیل می‌کند (Silveira et al., 2013). این پروژه با هدف امکان‌سنجی استفاده از خرمای ضایعاتی برای تولید رنگدانه نارنجی توسط کشت *موناسکوس پورپورئوس*با استفاده از روش سطح پاسخ، طرح ماتریکس مرکب مرکزی انجام شد. متغیرهای ضایعات خرما (۶۰-۲۰گرم بر لیتر)، درصد نمک (۱۲-۶ درصد) و pH محیط کشت (۹-۶) در سه سطح با استفاده نرم افزار Design expert 7.0.0تدوین گردید. به طوری‌که ۲۰ فرمولاسیون شامل: ۶ تکرار در نقطه مرکزی (آلفا برابر ۱/۶۲۸) بدست آمد. آزمایشات در شرایط ثابت درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی-گراد، سرعت همزدن ۱۲۰ دور بر دقیقه و مدت زمان ۱۴روز انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه سویه

سویه قارچ *موناسکوس پورپورئوس* از مرکز کلکسیون میکروبی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران (IROST) (تهران، ایران) خریداری شد. میسیلیوم این قارچ بر روی اسلنت محیط کشت YpSs کشت و نگهداری شد. نمک‌ها و ترکیبات محیط کشت از شرکت مرک خریداری شد.

تهیه و تلقیح محیط کشت بذری

محیط کشت بذری مطابق ترکیبات جدول ۱ تهیه و استریل شد. برای تلقیح محیط کشت بذری یک ظرف پتری از کشت ۱۰-۷ روزه که اسپور تشکیل داده بود با آب مقطر استریل شستشو داده شد تا اسپورها جدا شوند و چند میلی-لیتر از سوسپانسیون به طوریکه غلظت اسپور در محیط نهایی 10^5 اسپور باشد تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه گرمخانه-گذاری گردید (بانشی و همکاران، ۱۳۹۰).

تهیه و تلقیح محیط کشت اصلی

محیط کشت تیمارها در سطوح مختلف از ضایعات خرما از نظر میزان قند (g/l ۶۰-۲۰)، درصد نمک (۱۲-۶ درصد) و pH (۹-۶) در قالب طرح RSM تهیه و در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، فشار ۱۵ پوند بر اینچ و ۱۵ دقیقه توسط اتوکلاو استریل شد و سپس توسط چند میلی‌لیتر از محیط کشت بذری به طوری‌که محیط نهایی حاوی 10^5 اسپور باشد تلقیح و به مدت ۱۴ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد و ۱۲۰ دور در دقیقه در انکوباتور شیکردار گرمخانه-گذاری گردید.

اندازه‌گیری رنگدانه

به منظور اندازه‌گیری رنگدانه پس از ۱۴ روز از تلقیح نمونه-ها، هم حجم محیط کشت اتانول ۹۶ درصد به محیط اضافه شد و به مدت ۱ ساعت در انکوباتور شیکردار (Sher 240، صنعت فردوس، ایران) با ۱۸۰ دور بر دقیقه قرار داده شد. سپس به مدت ۱۰ دقیقه با درور ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (سیگما، 3KC، آلمان) و با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فاز مایع از توده سلولی جدا گردید. برای اندازه‌گیری غلظت رنگدانه ابتدا توسط اسپکتروفتومتر اسکن‌دار (Unico 2100، نیوجرسی) طول موج بیشینه برای رنگدانه نارنجی مشخص شد. سپس از اسپکتروفتومتر (Unico 2100، نیوجرسی) در طول موج ۴۲۲ برای رنگدانه نارنجی استفاده گردید (Zhang et al., 2013; Durakli-Velioglu et al., 2013)

اندازه‌گیری توده سلولی

مسیلیوم‌های قارچ در آب دیونایز سانتریفوژ و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن (۴۷ میلی‌متر) صاف و بر روی

Archive of SID

ترازوی دیجیتال وزن گردیدند. سپس تحت درجه حرارت ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شدند و بازده توده سلولی محاسبه گردید (Velumurugan et al., 2010).

اندازه‌گیری سایر پارامترهای تخمیر

پارامترهای تخمیر از جمله میزان تبدیل سوبسترا (معادله ۱)، راندمان تخمیر (بالاترین میزان رنگدانه به ازای زمان تخمیر) (معادله ۲)، بازده تولید رنگدانه به ازای توده سلولی (معادله ۳) محاسبه شد.

معادله (۱) $\Delta s(\%)=\frac{s_0-s}{s_0}\times 100$

S_0= میزان اولیه قند در محیط

S= میزان قند باقی‌مانده در محیط

معادله (۲) $P_P=\frac{P_{MAX}}{T_{P_{MAX}}}\ \ (\frac{g}{l.day})$

P_{MAX} = بالاترین میزان رنگدانه

$T_{P_{MAX}}$ = زمان تخمیر

معادله (۳) $Y_{P/X}=\frac{P_{MAX}-P_0}{X_{MAX}-X_0}\ \ (\frac{\text{Epigment}}{\text{Ebiomass}})$

P_{MAX} = بالاترین میزان رنگدانه

P_0 = میزان رنگدانه در روز اول

X_{MAX} = میزان توده زیستی در محیطی که بالاترین رنگدانه تولید شده

X_0 = میزان توده زیستی در محیط کشت در اولین روز

نتایج

شرایط تولید رنگدانه نارنجی توسط قارچ *موناسکوس پورپورئوس* در حالت تخمیر غوطه‌وری با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. ۲۰ فرمولاسیون حاصل از ترکیب ۳ عامل غلظت قند خرما (A)، نمک (B) و pH (C) بر میزان رنگدانه نارنجی در مورد بررسی قرار گرفت. به طوریکه فرمولاسیون‌های ۱ تا ۱۴ آزمایشات فاکتوریل و ۱۵ تا ۲۰ آزمون‌های تکرار در نقطه مرکزی می‌باشد. آزمون نقطه مرکزی جهت تخمین خطا در ۶ تکرار انجام پذیرفت. با توجه به نتایج (جدول ۲) بیشترین و کمترین مقدار رنگدانه ۶/۲۴ واحد جذب نوری و ۰/۴۱ واحد جذب نوری به ترتیب در آزمایش‌های شماره ۵ و ۲ مشاهده شده است. آنالیز واریانس و بدست آوردن معادله اولیه برای رنگدانه نارنجی تولید شده به روش غوطه‌وری با استفاده از ضایعات خرما با فرض ثابت بودن همه عوامل در مدل انجام پذیرفت. در عمل برخی از متغیرها به دلیل معنی‌دار نبودن در سطح آماری ۱٪ به صورت مجذور و یا برهمکنش از معادله حذف گردید. به طوریکه متغیرها براساس بزرگی ارزش P حذف گشته و آنالیز واریانس به صورت گام به گام انجام پذیرفت. این نتایج نشان می‌دهد اثرات خطی غلظت قند خرما، درصد نمک و pH بر میزان تولید رنگدانه نارنجی رابطه معنی‌داری دارند ($P<۰/۱$). متغیر مستقل غلظت قند خرما و درصد نمک به صورت مجذور بر تولید رنگدانه نارنجی موثر است ($P<۰/۱$). همچنین اثرات متقابل غلظت قند خرما-pH و نمک-pH در شرایط ثابت درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی گراد و سرعت همزدن ۱۲۰ دور بر دقیقه و مدت زمان ۱۴ روز بر رنگدانه نارنجی معنی‌دار می‌باشد ($P<۰/۱$). مقدار عددی ضریب تبیین (۰/۹۱) نشان می‌دهد فرمول ارائه شده (معادله ۴) در محدوده عددی تحقیق شده قابل اطمینان و با دقتی مناسب می‌باشد. ضریب تبیین نشان دهنده میزان انحراف داده‌ها از مدل رگرسیون خطی است و هرچه مقدار عددی آن به ۱ نزدیکتر باشد تطابق بین نتایج حاصل از آزمون و نتایج پیش بینی شده توسط فرمول ارائه شده بیشتر می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نتایج بدست آمده با مدل پیشنهادی در محدوده عددی ذکر شده به طور مناسبی سازگار است.

معادله ۴

Orang pigment=+4.81240 - (0.19756A) - (0.14631B) + (1.07828C) + (0.016344AB) - (0.10975BC)

(A=غلظت قند خرما، B=درصد نمک و C=pH)

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۱_ ترکیبات یک لیتر محیط کشت بذری

آب مقطر	$NaNO_3$	$FeSO_4.7H_2O$	KCl	$MgSO_4.7H_2O$	K_2HPO_4	قند خرما	عصاره مخمر
۱ لیتر	۳ گرم	۱۰ میلی‌گرم	۰/۵ گرم	۰/۵ گرم	۱ گرم	۲۰ گرم	۴ گرم

جدول۲_ نمایش تاثیر ترکیب‌های مختلف متغییرهای مستقل بر رنگدانه نارنجی

آزمایش	غلظت قند خرما	نمک	pH	رنگدانه(واحد جذب نوری)
۱	۲۰	۶	۶	۴/۳۰
۲	۶۰	۶	۶	۰/۴۱
۳	۲۰	۱۲	۶	۱/۷۹
۴	۶۰	۱۲	۶	۰/۸۶
۵	۲۰	۶	۹	۶/۲۴
۶	۶۰	۶	۹	۱/۰۰
۷	۲۰	۱۲	۹	۰/۷۹
۸	۶۰	۱۲	۹	۰/۴۴
۹	۶/۳	۹	۷/۵	۳/۲۸
۱۰	۷۳/۶	۹	۷/۵	۱/۲۷
۱۱	۴۰	۳/۹	۷/۵	۳/۳۳
۱۲	۴۰	۱۴	۷/۵	۰/۴۴
۱۳	۴۰	۹	۴/۹	۲/۱۰
۱۴	۴۰	۹	۱۰	۲/۵۵
۱۵	۴۰	۹	۷/۵	۲/۱۰
۱۶	۴۰	۹	۷/۵	۲/۶۳
۱۷	۴۰	۹	۷/۵	۲/۶۳
۱۸	۴۰	۹	۷/۵	۲/۱۰
۱۹	۴۰	۹	۷/۵	۲/۱۵
۲۰	۴۰	۹	۷/۵	۲/۶۳

Archive of SID

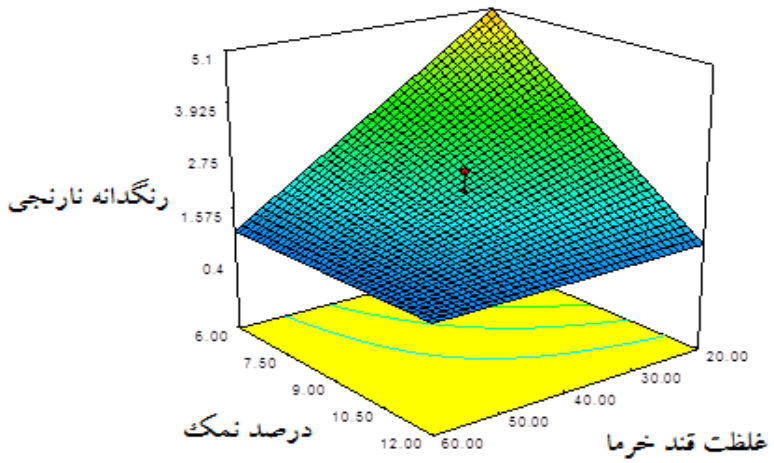
www.SID.ir

جدول۳_ نتایج تجزیه واریانس رنگدانه نارنجی

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	F	*P*
مدل	۵	۳۶/۰۶	۲۹/۶۲	<۰/۰۰۰۱
غلظت قند خرما(A)	۱	۱۳/۹۱	۵۷/۱۴	<۰/۰۰۰۱
نمک (B)	۱	۵۰/۳۱	۱۲/۲۵	<۰/۰۰۰۱
(C) pH	۱	۰/۲۵	۱/۰۳	۰/۳۳
AB	۱	۷/۶۹	۳۱/۶۵	<۰/۰۰۰۱
BC	۱	۱/۹۵	۸/۰۱	۰/۰۱۳
خطا باقیمانده ها	۱۴	۳/۴۱		
عدم برازش	۹	۳/۰۲	۴/۲۶	۰/۰۶۳
خطا کل	۵	۰/۳۹		
کل	۱۹	۳۹/۴۷		

R^2=۰/۹۱, C.V.=۲۲/۸۹%

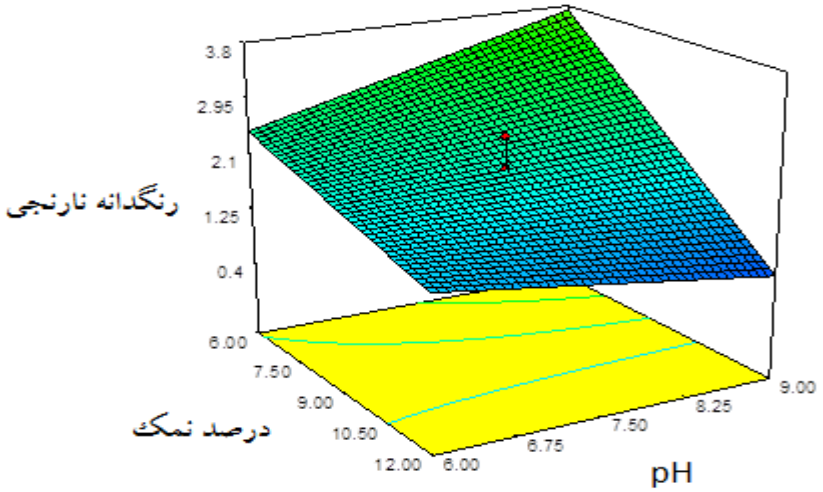
شکل ۱ تاثیر سطوح مختلف غلظت قند خرما و درصد نمک را بر مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت در شرایط ثابت درجه حرارت ۳۰ درجه سانتی‌گراد، سرعت همزدن ۱۲۰ دور بر دقیقه و مدت زمان ۱۴ روز نشان می‌دهد. منحنی سه بعدی مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت به صورت لبه بالارونده می‌باشد و با کاهش غلظت قند خرما و کاهش درصد نمک تولید رنگدانه نارنجی افزایش می‌یابد. شکل ۲ تاثیر سطوح مختلف نمک و pH را بر مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت در غلظت قند خرما ۴۰ گرم بر لیتر و شرایط ثابت درجه حرارت۳۰ درجه سانتی گراد، سرعت همزدن ۱۲۰ دور بر دقیقه و مدت زمان ۱۴ روز نشان می-دهد. منحنی سه بعدی مقدار رنگدانه در محیط کشت به صورت لبه بالارونده می‌باشد و با کاهش درصد نمک و افزایش pH تولید رنگدانه نارنجی افزایش می‌یابد.



شکل۱_ نمودار سه بعدی تاثیر سطوح مختلف غلظت قند خرما و درصد نمک بر مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت

Archive of SID

www.SID.ir



شکل۲_ نمودار سه بعدی تاثیر سطوح مختلف نمک و pH بر مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت

جدول ۴_ پارامترهای تخمیر در نقطه بهینه تولید رنگدانه نارنجی

پارامترهای تخمیر	
میزان توده زیستی	۷/۲ گرم بر لیتر
میزان تبدیل سوبسترا (قند خرما)	۸۲ درصد
راندمان تخمیر (بالاترین میزان رنگدانه به ازای زمان تخمیر)	۵/۳۶ گرم بر لیتر در روز

معرفی شرایط کشت بهینه برای تولید رنگدانه نارنجی

مطالعه حاضر نشان داد که مناسب ترین غلظت برای دست-یابی به حداکثر مقدار رنگدانه نارنجی در محیط کشت قارچ *موناسکوس پورپورئوس*، غلظت قند خرما (۲۰ گرم بر لیتر) همراه با ۶ درصد نمک و pH حدود ۹ است. پارامترهای تخمیر از قبیل مقدار توده زیستی، میزان تبدیل سوبسترا (قند خرما)، راندمان تخمیر (بالاترین میزان رنگدانه به ازای زمان تخمیر) و بازده تولید رنگدانه به ازای توده زیستی در نقطه بهینه به‌دست آمد (جدول ۴).

اعتبارسنجی

مقادیر به دست آمده از فرایند بهینه‌سازی تولید رنگدانه نارنجی توسط قارچ *موناسکوس پورپورئوس* برای متغیرهای غلظت قند خرما، نمک و pH به ترتیب ۴۰ گرم بر لیتر، ۶ درصد و ۹ می‌باشد. مقدار پیش‌بینی شده برای متغیر پاسخ ۷/۸۷ واحد جذب نوری بود. به منظور بررسی تطابق نتایج عملی با مقادیر تئوری پیش‌بینی شده، آزمایش تأییدکننده درشرایط بهینه انجام شد. تحت شرایط بهینه پیشنهاد شده توسط این تحقیق مقدار متوسط رنگدانه نارنجی تولید شده ۶/۲۴ واحد جذب نوری بدست آمد که نزدیک به مقدار پیش‌بینی شده توسط مدل می‌باشد. بنابراین نتایج نشان می‌دهد مدل بدست آمده قابل اعتماد برای پیش بینی تولید رنگدانه نارنجی توسط کشت قارچ *موناسکوس پورپورئوس* بر ضایعات خرما می‌باشد. نتایج این آزمایش در جدول ۵ آورده شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول۵_ مقادیر پیش بینی شده و تجربی میزان رنگدانه نارنجی در شرایط بهینه

متغیر پاسخ	مقدار پیش بینی شده	مقدار تجربی
رنگدانه نارنجی	۶/۷	۶/۲۴±۰/۰۵

میانگین±انحراف استاندارد

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت قند خرما ۲۰ گرم بر لیتر، نمک ۶ درصد و pH برابر ۹ بهترین شرایط برای تولید رنگدانه نارنجی می‌باشد. تجزیه و تحلیل نتایج رگرسیون نشان داد اثر خطی pH محیط کشت و اثرات خطی و درجه دوم غلظت قند خرما و درصد نمک، بر تولید رنگدانه نارنجی رابطه معنی‌داری دارند. همچنین اثرات متقابل غلظت قند خرما-pH و نمک- pH نیز بر رنگدانه نارنجی معنی‌دار می-باشد. نتایج جوزلاوا و همکاران (۱۹۹۶) مشابه نتایج این تحقیق است، آنها پیشنهاد کرده‌اند که باید مقدار گلوکز کمتر از ۲۰ گرم بر لیتر نگه داشته شود تا از اثر پدیده سر ریز شدن محیط کشت که در غلظت‌های بالاتر از ۲۰ گرم بر لیتر اتفاق می‌افتد جلوگیری شود (Juzlova et al., 1996). پدیده سرریز شدن محیط کشت منجر به تبدیل متابولیسم هوازی به بی‌هوازی حتی در حضور مقادیر بالای اکسیژن می شود (Carvalho et al, 2003). پراجاپاتی و همکاران (۲۰۱۴) مقادیرگلوکز و تریپتون موجود در محیط کشت به ترتیب (۰/۱- ۳) و (۰/۱-۱/۵) درصد و pH ۱۰-۳ را برای بهینه‌سازی توسط مدل سطح پاسخ انتخاب و گزارش کردند در مقادیر بالای گلوکز و pH قلیایی بالاترین مقدار رنگدانه قرمز و نارنجی به دست می‌آید (Prajapati et al., 2014). برهمکنش تریپتون و pH نیز وجود داشت و بالاترین مقدار رنگدانه در pH قلیایی و مقادیر پایین تریپتون به دست آمد. تحقیقات بابیتا و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده است افزایش نمک در محیط کشت برای تولید رنگدانه قرمز موثر است (Babitha et al., 2007). نتایج تحقیقات موخرجی و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد در دمای بهینه ۳۰ درجه سانتی گراد رنگدانه قرمز در pH=۶-۸ غالب است و اما pH اسیدی (۴-۲) تولید رنگدانه زرد را پشتیبانی می‌کند و با افزایش pH به بالاتر از ۵ به شدت کاهش می‌یابد. رنگدانه نارنجی بدون در نظر گرفتن pH حالت پایدار خود را حفظ می‌نماید (Mukherjee et al., 2011). چن و جانز (۱۹۹۳) دریافتند که آنکافلاوین توسط *موناسکوس پورپورئوس* در pH=۴ تولید می‌شود در حالیکه تولید سایر رنگدانه‌ها غیر وابسته به pH است. رنگدانه قرمز در pH=۶/۵ تولید می-شود در حالیکه تولید رنگدانه نارنجی در pH =۲/۵ روی می‌دهد (Chen et al., 1993). نتایج نشان می‌دهند مدل به دست آمده با مقدار عددی ضریب تعیین مناسب به خوبی توانسته است رابطه بین شرایط کشت (غلظت قند خرما، نمک و pH) و میزان رنگدانه را نشان داده و پیش‌بینی کند. نتایج نشان داد محیط کشت خرما می‌تواند به عنوان منبع کربن در تولید رنگدانه نارنجی توسط *موناسکوس پورپورئوس* مورد استفاده قرار گیرد.

نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت قند خرما ۲۰ گرم بر لیتر، نمک ۶ درصد و pH برابر ۹ بهترین شرایط برای تولید رنگدانه نارنجی می‌باشد. تجزیه و تحلیل نتایج رگرسیون نشان داد اثر خطی pH محیط کشت و اثرات خطی و درجه دوم غلظت قند خرما و درصد نمک، بر تولید رنگدانه نارنجی رابطه معنی‌داری دارند. همچنین اثرات متقابل غلظت قند خرما-pH و نمک- pH نیزبر رنگدانه نارنجی معنی‌دار می باشد. مدل با مقدار عددی ضریب تعیین مناسب به خوبی

Archive of SID

توانسته است رابطه بین شرایط کشت (غلظ قندخرما، می-تواند به عنوان منبع کربن در تولید رنگدانه نمک و pH) و میزان رنگدانه را نشان داده و پیش‌بینی کند. نتایج نشان داد محیط کشت خرم نارنجی توسط *موناسکوس پورپورئوس* مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

۱. بانشی، ف. (۱۳۹۰) بهینه سازی شرایط تولید قارچ *موناسکوس پورپورئوس* (دما، اجزای محیط کشت، pH و کاربردالیسیتورها) به منظور دسترسی به حداکثر بیوماس و رنگیزه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

2. Babitha, S., R. Soccol, C., and Pandey, A. 2007. Solid-state fermentation for the production of Monascuspigments from jackfruit seed. Bioresource Technol. 98: 1554–1560.

3. Carvalho, C., Pandey, A., Babitha, S., and Soccol, C.R. 2003. Production of Monascusbiopigments: an overview. Agro Food Ind Hi Tech. 14: 37–42.

4. Chen, M., and Johns, M. 1993.Effect of the pH and nitrogen source on pigment production by *Monascuspurpureus*. Enzyme Microb Technol. 16: 584–590.

5. Dominguez-Espinosa, R.M., and Webb, C. 2003. Submerged fermentation in wheat substrates for production of *Monascus* pigments. World J Microbiol Biotechnol. 19: 329–336.

6. Durakl-Velioglu, S., Hakki Boyac, I., Simsek, O., and Gumus, T. 2013. Optimizing a submerged *Monascus*cultivation for production of red pigment with bug damaged wheat using artificial neural networks. Food Sci & Biotechnol. 22: 1639-1648.

7. Feng, Y., Shao, Y., and Chen, F. 2012. *Monascus* pigment. Appl Microbiol Biotechnol. 96:1421–1440

8. Juzlova, P., Martinkova, L., and Kren, V. 1996. Secondary metabolites of the fungus *Monascus*: a review. J Ind Microbiol. 16: 163-170.

9. Mukherjee, G., and Singh, S.K. 2011. Purification and characterization of a new red pigment from *Monascuspurpureus* in submerged fermentation. Process Biochem. 46: 188–192.

10. Prajapati, V., Soni, N., Trivedi, U.C., and Patel, K. 2015. An enhancement of red pigment production by submerged culture of *Monascuspurpureus* MTCC 410 employing statistical methodology. Biocatal Agric Biotechnol. 3:140-145.

11. Silveira, S. T, Daroit, D. J, Sant'Anna, V., and Brandelli, A. 2013. Stability modeling of red pigments produced by *Monascuspurpureus* in submerged cultivations with sugarcane bagasse. Food Bioprocess Technol. 6:1007–1014.

12. Velmurugan, P., Kamala-Kannan, S., Balachandar, V., Lakshmanaperumalsamy, P., Chae, J. C., and Oh, B.T. 2010. Effect of light on growth, intracellular and extracellular pigment production by fivepigment-producing filamentous fungi in synthetic medium. J Biosci Bioengin. 109: 346–350.

13. Zhang, X. W., Wang, J. h., Chen, M. h., and Wang, C. L. 2013. Effect of nitrogen sources on production and photostability of Monascuspigments in liquid fermentation. IERI Procedia, 5: 344 – 350.

Archive of SID

www.SID.ir

Optimization of the orang pigment production by *monascus purpureus* from date waste using response surface methodology

Bakhshi F [1], Jahadi M [*2]

1. M. Sc. Student of the Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2. Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

***Corresponding author**: *m.jahadi@khuisf.ac.ir*

Received: 22 April 2017 Accepted: 29 November 2017

Abstract

Pigments produced by *Monascus* spp. can be used as food grade biocolorant and are preferred over the synthetic variants which elicit various adverse effects. *Monascus purpureus PTCC 5303* has been investigated in the present study for orang pigment production employing submerged fermentation. Central composite design (CCD) of response surface methodology (RSM) was used to optimize the three significant medium components (date sugar concentration (20-60 g/l), salt (6-12%) and pH (6-9)). According to the response surface point prediction analysis, date sugar concentration of 20 g/l, NaCl 6% with 9 pH of medium could give maximum orang pigment yield up to 6.7 OD. Under optimized experimental conditions, a maximum yield of orang pigment, biomass productivity, substrate conversion and productivity of orang pigment production were 6.24±0.05 (OD),7.2 (g/l), 82 (%) and 5.36 (g/l.day), respectively. From the results of this study, date waste can be used as a low cost substrate for the production of orang pigment in large scale studies.

Keywords: Central composite design, Date, *Monascus purpureus*, Respons surface methodology.

Archive of SID

www.SID.ir